



**Espacenet**

## Bibliographic data: CN 1244805 (A)

Stable lyophilized pharmaceutical substance from monoclonal or polyclonal antibodies

**Publication date:** 2000-02-16

**Inventor(s):** KALLMEYER G [DE]; WINTER G [DE]; KESSEN C [DE] \*

**Applicant(s):** BOEHRINGER MANHUHEIM GMBH [DE] \*

**Classification:**

- **international:** **A61K31/7004; A61K31/7008; A61K31/7016; A61K31/702; A61K39/395; A61K47/18; A61K47/20; A61K47/26; A61K9/19; C07K16/08; C07K16/28; A61K38/00;** (IPC1-7): A61K39/395; A61K47/18; A61K47/26

- **European:** A61K39/395S; A61K47/18B; A61K47/26; A61K9/00M5; A61K9/19; C07K16/08A12; C07K16/28G

**Application number:** CN19971081416 19971119

**Priority number (s):** EP19960118489 19961119

**Also published as:**

- CN 1155408 (C)
- WO 9822136 (A2)
- WO 9822136 (A3)
- ZA 9710409 (A)
- US 2008286280 (A1)
- more

Abstract not available for CN 1244805 (A)

Abstract of corresponding document: WO 9822136 (A2)

Disclosed are lyophilized pharmaceutical substances from monoclonal or polyclonal antibodies, containing a sugar or amino sugar as well as a surfactant as a stabilizing agent. Also disclosed are the method of preparing said stable lyophilizates as well as the use of a sugar or amino sugar, an amino acid and a surfactant as stabilizers for therapeutic and diagnostic agents containing antibodies.

Last updated: 26.04.2011 Worldwide Database 5.7.23; 92p

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl<sup>7</sup>

A61K 39/395

A61K 47/18 A61K 47/26

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 97181416.3

[43]公开日 2000 年 2 月 16 日

[11]公开号 CN 1244805A

[22]申请日 1997.11.19 [21]申请号 97181416.3  
[30]优先权

[32]1996.11.19 [33]EP [31]96118489.2

[86]国际申请 PCT/EP97/06452 1997.11.19

[87]国际公布 WO98/22136 德 1998.5.28

[85]进入国家阶段日期 1999.7.16

[71]申请人 罗赫诊断器材股份有限公司

地址 联邦德国曼海姆

[72]发明人 G·卡尔梅耶 G·温特尔 C·克勒森  
H·伍格

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
代理人 罗 宏 温宏艳

权利要求书 1 页 说明书 24 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 冷冻干燥的稳定的单克隆或多克隆抗体药物制剂

[57]摘要

本发明涉及单克隆或多克隆抗体的冷冻干燥药物制剂,该制剂含有糖或氨基糖、氨基酸或表面活性剂作为稳定剂。另外,本发明还涉及制备该稳定的冷冻干燥物的方法,以及糖或氨基糖、氨基酸和表面活性剂组合后用于稳定含抗体的治疗或诊断试剂的应用。

ISSN 1008-4274

## 权 利 要 求 书

1、稳定的冷冻干燥的单克隆抗体或多克隆抗体药物制剂，包括：糖或氨基糖，氨基酸和表面活性剂。

2、权利要求 1 所述的制剂，其特征在于，制剂基本不含聚乙二醇和/或蛋白样药物辅料物质。

3、权利要求 1 或 2 所述的制剂，其基本组成是：

a) 单克隆抗体或多克隆抗体，

b) 糖或氨基糖，

c) 氨基酸，

10 d) 作为缓冲物质的无机酸，和

e) 表面活性剂。

4、权利要求 1-3 任意一项所述的制剂，其特征在于，糖是单糖、双糖或三糖，优选蔗糖、麦芽糖、海藻糖或棉子糖。

5、权利要求 1-4 任意一项所述的制剂，其特征在于，氨基糖是葡萄糖胺、N-甲基葡萄糖胺、半乳糖胺或神经氨酸。

6、权利要求 1-5 任意一项所述的制剂，其特征在于，氨基酸是碱性、酸性或中性氨基酸，优选精氨酸、赖氨酸、组氨酸、鸟氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、丙氨酸、谷氨酸或天门冬氨酸。

7、权利要求 1-6 任意一项所述的制剂，其特征在于，表面活性剂是吐温 (Polysorbate) 或者聚氧乙烯-聚氧丙烯聚合物。

8、权利要求 1-7 任意一项所述的制剂，其特征在于，该制剂含有生理上可耐受的辅料物质，选自：酸、碱、缓冲剂和/或等渗剂。

9、单克隆抗体或多克隆抗体的水性药物制剂，可通过重新溶解权利要求 1-8 所述的冷冻干燥物获得。

25 10、权利要求 9 所述的水性药物制剂，其特征在于，溶液的 pH 值为 5-8，优选 6-7.4。

11、制备如权利要求 1-8 所述冷冻干燥的药物制剂的方法，其特征在于，制备含有单克隆抗体或多克隆抗体作为活性物质，含有糖或氨基糖、氨基酸和表面活性剂作为添加剂，以及含有任选的其它药物辅料物质的水制剂，然后冷冻干燥该溶液。

12、由下列物质组成的辅料物质组合的应用：a) 糖或氨基糖，b) 氨基酸和 c) 表面活性剂；这些辅料物质的组合用于制备含有抗体的稳定的治疗或诊断试剂。

# 说明书

## 冷冻干燥的稳定的单克隆或多克隆抗体药物制剂

5 本发明涉及冷冻干燥的单克隆抗体或多克隆抗体药物制剂，该制剂含有糖或氨基糖、氨基酸和表面活性剂作为稳定剂。另外，本发明还涉及生产这些稳定的冷冻干燥物冷冻干燥物的方法，以及糖或氨基糖、氨基酸和表面活性剂在含有抗体的治疗或诊断试剂中作为稳定剂的应用。

生产用于治疗及诊断目的的免疫球蛋白，特别是单克隆抗体和多克隆抗体，目前，有非常重要的意义，并且将越来越重要。

10 长时间以来，已经知道抗体能用作药物试剂，并且有广泛应用。因此，例如，抗体已经成功地用于破伤风预防、对抗病原微生物或中和它们的毒素，抗体还成功的用于治疗蛇毒中毒。

如果已认识了与疾病机理有关的抗原，许多感染和一些抗体治疗的肿瘤指征就是这种情况，就可以利用抗体的特异性进行治疗。

15 在临床和临床前研究中，目前抗体用于降低胆固醇水平，影响血管紧张素-肾素系统以及用于自身免疫疾病例如狼疮、自身免疫脑炎、多发性硬化重症、多关节炎和自身免疫重症肌无力。

20 抗体的另外一个治疗意义是它们在对抗低分子物质引起的中毒中的应用，例如：抗地高辛抗体的 Fab 片段用于治疗地高辛或强心甙类如洋地黄毒甙和 G 毒毛旋花甙引起的中毒。并且，在诊断领域，抗体还用来识别、纯化和确定蛋白质的含量。

70 年代后期和 80 年代，基因工程，彻底改变了细胞培养物中单克隆抗体的形成，极大地改进了抗体的制备。

25 为了完成这些不同的用途，有必要制备能稳定储存的单克隆抗体和多克隆抗体药物制剂。已经有许多关于液体制剂或特异性抗体的冷冻干燥物的出版物。例如 EP0 280 358、EP 0 170 983、WO 89/11298、EP 0 352 500 和 JP 63088197 中记载了抗体的液体制剂。

30 根据 EP 0 280 358，把葡聚糖加入到抗体溶液中，稳定化该抗体以对抗某些激素，通过这种方式可使其在 9 个月以上时间内保持稳定。根据 EP0 170 983，在加热时，加入水解的卵白蛋白以稳定受热易分解的单克隆抗体，结果该抗体在 45℃ 储存 7 天后仍然可以使用。多羟基醇（如甘油、肌醇、聚乙烯基醇）或糖（如：蔗糖和葡萄糖）或糖醇类（如山



梨糖醇、甘露糖醇) 公开在 JP63088197 中作为其它的液体制剂稳定剂。W089/11298 公开了在含有氯化钠的磷酸盐缓冲液中麦芽糖用作另一种液相稳定单克隆抗体的方法。EP0352500 描述聚乙二醇 4000 和 3-丙醇酸内酯用于单克隆抗体的液相稳定。

5 然而, 通常来说, 由于储存稳定性的原因, 液体制剂并不是最理想办法, 因为在温度升高的情况下, 当运输通过不同气候地区或者未按正常方法储存, (如冷却链中断) 在贮存期间蛋白质或其聚合物可能会沉淀, 因此该溶液可能蛋白质含量降低并且可能产生混浊。因此, 在上面所述情况下, 不能保证该溶液的应用不出问题。

10 与上面相反, 对于冷冻干燥物制剂, 水的除去使降解产物(如通过脱酰胺和水解) 和聚集物的形成减少。残余水(结合水) 的量与稳定性相关特别是在糖存在时。(Hsu 等, Dev. Biol. Stand. 1991, 74: 255-267; Pikal 等, Dev. Biol. Stand. 1991, 74: 21-27)。

已有文献中记载了含特殊抗体作为活性物质的冷冻干燥物制剂, 但  
15 对于稳定化问题, 并没有给出统一的解决方法。在 W093/00807 中记载了由低温保护剂(如聚乙二醇) 和一种能与蛋白质形成氢键的化合物组成的双组份系统来稳定生物物质如人体蛋白质、生长激素、白介素、干扰素、酶以及单克隆和多克隆抗体。然而, 这些制剂的缺点在于: 加入  
20 高分子化合物如聚乙二醇, 会导致其在体内聚集, 若不能生物降解, 具有潜在的毒副作用。而且, 众所周知, 取决于其分子量, 聚合物可以作为抗原。

根据 JP60146833, 加入白蛋白(人、马或牛白蛋白), 冷冻时不稳定的单克隆抗体的冷冻干燥物可以保持稳定一年时间。在 EP0303088 还记载了人血清白蛋白(HSA) 与糖(如葡萄糖、蔗糖、麦芽糖) 结合用来稳定  
25 治疗绿脓杆菌感染的单克隆抗体。

在 EP0413188 中, 人血清白蛋白(与糖和氨基酸结合) 亦是稳定单克隆抗体的物质。在 JP01075433 中, 人血清白蛋白、甘露糖醇和聚乙二醇的混合物用来稳定冷冻干燥物中一种人类的单克隆抗体。W084/00890 中记载了另一个利用大分子物质如聚乙二醇和保护性蛋白质  
30 如人血清白蛋白的例子, 用来稳定冷冻干燥期间的 $\gamma$ -球蛋白。

Hagiwaga 等在 W093/01835 中描述了通过与在含有氯化钠和磷酸盐缓冲液的溶液中的甘露糖醇和甘氨酸共同冷冻干燥, 来稳定人单克隆抗

体。通过冷冻、冷冻干燥和再生可获得稳定的制剂。

Draber 等人 (免疫学方法杂志 1995, 181: 37-43), 通过在 4℃ 单独加入海藻糖以及其与聚乙二醇 8000, 可从鼠中得到稳定的单克隆 IgM 抗体制剂。然而, 该抗体在 50℃ 时只能稳定 14 天。单独应用其它的单糖或双糖如: 蔗糖、麦芽糖、乳糖或半乳糖, 则不可能稳定这些抗体。

在 W089/11297 中, 记载了用糖 (麦芽糖) 和酸性范围的缓冲液 (乙酸盐缓冲液) 把来源于小鼠的单克隆抗体转变成稳定的冷冻干燥物。其缺点在于缓冲原限在酸性范围。

在 W092/15 331 中, 用聚合明胶作为冷冻干燥物的冷冻保护剂和稳定剂。同时可以用明胶与羧酸 (如柠檬酸) 或其盐, 以及与伯、仲或叔醇或者 pH 范围内 6.8-8.1 的氨基酸, 这样也可达到稳定化的目的。

在所有上面提到的一系列出版物中, 所提到的药物添加剂或辅料物质作为稳定剂, 从医学观点看是不能接受的。因此, 聚合物 (如 PEG 或明胶) 和蛋白质 (如血清白蛋白) 由于其来源及其理化性质是存在一定危险性的, 并且能引发过敏反应, 甚至导致过敏性休克。人或动物来源的蛋白质以及来源于细胞培养物的蛋白质还可带来病毒污染的危险性。而其它难以分析监测的类蛋白质污染物可能由于它们的性质能够引起人体免疫学反应。

如果不发生生物降解, 聚合物如聚乙二醇 (PEG) 或明胶的加入会导致体内聚集, 引起潜在的毒性副作用。

取决于分子量, 聚合物也可以有抗原性质。由于在生产过程中催化剂的使用或者单体及其它聚合体片断的存在, 也很难保证该聚合体的纯度。在给药的药物剂型中, 尤其是在能皮下给药的药物剂型中, 如果有另外的稳定化方法, 应该避免应用聚合物。

相反地, 单独用糖而没有其它添加剂, 当冷冻干燥抗体时, 不能保证足够的保护作用。

因此, 本发明的目的是提供稳定的单克隆或多克隆抗体药物制剂, 该制剂基本上不含有前面所述的聚合物或蛋白质药物辅料物质。这特别能应用于那些在冷冻和解冻期间或者在多次冷冻和解冻期间不稳定的抗体。

令人惊奇的发现: 如果含有糖或氨基糖、氨基酸和表面活性剂作为添加剂, 可以得到稳定的单克隆或多克隆抗体的药物冷冻干燥物。其中

的冷冻干燥物优选组成是：a) 抗体，b) 糖或氨基糖，c) 氨基酸，d) 用于调整 pH 值的缓冲液和 e) 表面活性剂。其中，只含有一种或者两种不同的氨基酸是特别优选的。

5 这些制剂生理上非常耐受，具有相对简单的组合物，并且能精确给药。另外它们是稳定的，即经过多次冷冻和解冻过程，及长期储存时，没有显示出有能检测到的降解产品或者蛋白聚集物。

10 该冷冻干燥物能在冷藏温度（4-12℃）贮存而无稳定性问题，或甚至在室温（18-23℃）下，贮存至少 3 个月，优选至少 6 个月，尤其优选至少 1-2 年的时间。而且，它们还能在较高温度（例如高至 30℃）下保持稳定。显示储存稳定性所依据的事实为，例如：在所述储存期间，在有注射用水或等渗溶液的容器中再生冷冻干燥物时，只能检测出非常少量的颗粒。特别地，在所述容器中，大于 10μm 的颗粒不到 6000 粒，和/或大于 25μm 的颗粒不到 600 粒。这样制备的溶液能够在直至约 5 天，优选 3 天的时间内保持稳定。

15 由于挑选的添加剂组合，而得到防冻保护制剂的事实是特别有利的。因此，特别地，这样使抗体能在低至-45℃时冷冻干燥而不损害其稳定性。并且，根据本发明，含有组合添加剂的冷冻干燥物长时间甚至在较高温度下，储存期间也能保持稳定。尤其与传统制剂相比，在水中再生后，没有颗粒形成，即溶液基本上不混浊。

20 本发明制剂还有一个优点是基本上不含蛋白样或者聚合的辅料物质，从医学观点看应用这些物质是可能存在问题的。由于现在可以通过溶解冷冻干燥物制备 pH 值约 5-8、优选 pH 值 6.0-7.4（血液中 pH 值 7.2-7.4）的含有抗体的液体治疗或诊断试剂，它们具有另一个优点是耐受性良好并且给药时基本上不疼痛。总之这对于皮下给药是重要的，  
25 因为与静脉给药相比，皮下给药更容易产生不耐受性。

在通常生产的本发明制剂中，抗体的临床相对浓度范围是例如达到 20mg/ml，优选达到 10mg/ml。优选的浓度范围是高于 0.01mg/ml 的浓度范围，特别是高于 0.05 和 0.1mg/ml 的浓度范围。特别地，应用 0.05-10mg/ml 或者 0.1-5mg/ml 的浓度范围，例如用约 5、8 或 10mg/ml。  
30 皮下或静脉注射时，所用溶液的注射体积小于 2ml，优选约 1ml。皮下给药时，优选小注射体积，因为这样对皮下组织只有轻度机械刺激。这些溶液基本上还适合直接作为灌注溶液的添加剂或者作为灌注溶液。如



果用作灌注溶液的添加剂，则抗体的浓度较高如达到 10mg/ml。然后把这些浓缩的抗体溶液加入到通常的灌注溶液中，这样在将要给药的灌注溶液中，抗体的浓度在治疗相关的范围内。这个范围通常是 0.001-0.5mg/ml。

- 5       简单的药物给药形式可以是备用的灌注溶液或注射液或者是冷冻干燥物。如果药物制剂以冷冻干燥物的形式应用，则单剂量容器，例如容量 10ml 的玻璃安瓿，含有抗体的量为 0.1-500mg，优选 10-100mg，这取决于抗体各自相关的治疗剂量。该冷冻干燥物任选地含有传统的药物辅料物质。该冷冻干燥物以适量的再生溶液溶解，然后或能直接用作注射液或者用作灌注液的添加剂。如果用作灌注液的添加剂，该冷冻干燥物通常以约 10ml 的再生溶液溶解，然后加入到 250ml 生理盐水（0.9%的氯化钠）中。所得到的灌注液然后通常在约 30 分钟内给药至病人。

- 15       根据本发明，所用的糖可以是单糖、双糖或三糖。葡萄糖、甘露糖、半乳糖、果糖和山梨糖可以作为供考虑的单糖。蔗糖、乳糖、麦芽糖或海藻糖可作为双糖考虑。优选用棉子糖作为三糖。根据本发明，蔗糖、乳糖、麦芽糖、棉子糖或海藻糖是特别优选的。也可应用立体异构体双糖纤维素二糖、龙胆二糖或异麦芽糖来代替麦芽糖。

- 20       通常提到和应用这些单糖是指氨基糖，即以氨基（ $-NH_2$ 、 $-NHR$ 、 $-NR_2$ ）或者酰化氨基（ $-NH-CO-R$ ）代替羟基。根据本发明，尤其优选的是葡萄糖胺、N-甲基葡萄糖胺、半乳糖胺和神经氨酸。糖含量或氨基糖含量为，例如，每个给药形式达到 2000mg，优选达到 1000mg，尤其优选达到 800mg 或 500mg。大于 10、50 或 100mg 含量可考虑为糖含量的下限。优选范围是 200-1000mg，尤其是 400-800mg。所述的每个形式给药量是指以冷冻干燥物出售的每个给药形式。优选把这样的冷冻干燥物装入 10ml 的注射瓶中。当用 10ml 再生溶液把冷冻干燥物溶解后，就得到了可以直接给药的液体给药形式。这些注射液中的糖含量可达到 200mg/ml，优选达到 100mg/ml，取决于所用糖的上面所述的量。

- 30       根据本发明，所用的氨基酸可以是碱性氨基酸如精氨酸、赖氨酸、组氨酸和鸟氨酸等，优选使用氨基酸的形式是其无机盐形式（优选以磷酸盐形式，即氨基酸的磷酸盐）。如果应用游离氨基酸，通过加入合适的生理耐受的缓冲物质如无机酸，特别是磷酸、磺酸、乙酸、甲酸或其盐，调节到所需要的 pH 值。在这种情况下，应用磷酸盐具有的特别优



点是：可得到特别稳定的冷冻干燥物。当制剂中基本上不含有机酸如苹果酸、酒石酸、枸橼酸、琥珀酸和富马酸等时，或者它们相应的阴离子（苹果酸盐、草酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐等）不存在时，证明是有利的。

- 5 优选的氨基酸是精氨酸、赖氨酸或鸟氨酸。另外还可应用酸性氨基酸如谷氨酸和天门冬氨酸，或者中性氨基酸如异亮氨酸、亮氨酸和丙氨酸，或者芳香氨基酸例如苯丙氨酸、酪氨酸或色氨酸。根据本发明，水制剂中氨基酸含量可达到 100mg/ml，优选达到 50mg/ml 或达到 30mg/ml。其下限可能是例如 1、5 或 10mg/ml 以上的浓度。优选的浓度范围，例如，  
10 如，为 3-30mg/ml 或 10-25mg/ml。

如果相应的给药形式是以冷冻干燥物出售，这些冷冻干燥物优选在注射瓶（如体积 10ml）中使用。这样的单个给药形式含有氨基酸的量可达到 1000mg，优选达到 500mg 或达到 300mg。

- 可考虑的表面活性剂是通常用于药物制剂中的所有表面活性剂，优选  
15 选聚山梨醇酯和聚氧乙烯-聚氧丙烯聚合物例如吐温®。0.05-0.5mg/ml，优选 0.1mg/ml 的低含量表面活性剂足以稳定所述抗体。在上面提到的单个给药形式中，对于装入 10ml 注射瓶中的冷冻干燥物，表面活性剂的量是 0.5-5mg。

- 通过上述添加剂达到抗体的稳定化，原则上涉及所有已知的单克隆  
20 和多克隆抗体以及它们的 Fab 片断。优选使用人源化抗体和改性抗体（参见例如：US5,624,821；EP0 592 106；PCT/EP96/00098）。这些抗体的分子量是每个单体单位 50-200k Da，特别是分子量约 80-150 kDa。根据本发明，尤其可以稳定的抗体有：抗乙肝病毒抗体（参见 WO 94/11495）、抗 AIDS 病毒抗体、抗巨细胞病毒抗体、抗脑膜脑炎病毒  
25 抗体（FSME）、抗风疹病毒抗体、抗麻疹病毒抗体、抗狂犬病病原体抗体、抗绿脓杆菌抗体、抗水痘带状疱疹病毒抗体、抗破伤风病原体抗体、抗 van Willebrandt 因子抗体（参见 WO 96/17078）、抗 NGFR（神经生长因子受体 K）抗体、抗 PDGFR（血小板衍生的生长因子受体：Shulman, Sauer, Jackman, Chang, Landolfi, 生物化学杂志 1997, 272 (28):  
30 17400-4）抗体、抗 selectin 抗体、特别是抗 E-selectin 抗体、抗 L-selectin 抗体（参见 Takashi 等，美国国家科学院院刊（Proc. Natl. Acad. Sci. USA）1990, 87: 2244-2248; WO 94/12215）或者抗 P-selectin

抗体；抗 integrins 抗体或抗白喉病原体抗体。抗体浓度可优选达到 8mg/ml。优选例如 0.05-2mg/ml。在单个给药形式中，例如在 10ml 注射瓶中的冷冻干燥物中，抗体的量可达到 100mg，优选 80mg、50mg、20mg 或 10mg。用 10ml 体积再生冷冻干燥物之后，抗体的浓度范围是 1-5 10mg/ml，优选 5-8mg/ml。

除了含有所述添加剂，糖，氨基酸和表面活性剂外，本发明冷冻干燥物还可含有生理上耐受的辅料物质，选自酸、碱、缓冲试剂或等渗试剂以调整 pH 值至 5-8，优选 6.0-7.4。制剂的缓冲容量调整到，当用标准再生溶液如注射用水溶解该冷冻干燥物时，该缓冲剂浓度范围是 10-10 20mmol/l，优选约 15mmol/l。

加入不同辅料物质或者抗体的顺序基本与生产过程无关，由本领域技术人员判断。加入碱例如碱金属氢氧化物、碱土金属氢氧化物或者氨水以调整溶液至所述的 pH 值。优选氢氧化钠用于此目的。原则上可通过加入碱溶液能够调整所需要的 pH 值。在这种意义上，通常用强碱的弱酸盐是适合的，这样的盐如乙酸钠、柠檬酸钠、磷酸氢二钠或磷酸二15 氢钠和碳酸钠。如果辅料物质的药物溶液的 pH 值偏碱，可通过酸滴定来调整 pH 直至达到所需要的 pH 值范围。可以考虑的酸为生理上耐受的无机酸或有机酸例如盐酸、磷酸、乙酸、柠檬酸或者通常具有酸性 pH 值的物质的溶液。在这个意义上，优选的物质是强酸弱碱盐如：磷酸二20 氢钠或磷酸氢二钠。优选用磷酸或氢氧化钠水溶液调整该溶液的 pH 值。

为了生产耐受性良好的胃肠外给药形式，如果抗体的渗透性质和用于稳定的添加剂还未能使药物达到等渗性，加入等渗辅料物质是有用的。尤其是应用非离子强耐受的辅料物质。然而，对于盐如氯化钠，只能小量加入，特别是在最终用于给药的注射液或灌流液中，应该不超过25 30mmol/l 的值。

另外，药物制剂还可含有其它通常的辅料物质或添加剂。可以加入抗氧化剂例如谷胱甘肽或者抗坏血酸等物质。

为了生产冷冻干燥物，首先生产含有抗体的药物水溶液。优选制备含有氯化钠的缓冲的抗体溶液。该抗体溶液与含有添加剂糖、氨基酸和30 表面活性剂的水溶液混合，同时用酸或碱调节 pH 至 5-8。加入适量磷酸或磷酸盐和氯化钠，以使溶液达到先前确定的浓度。然后，过滤除菌，冷冻干燥以这种方式制备的溶液。

本发明还使含有对冷冻敏感抗体的不稳定水溶液通过冷冻干燥的方式转变成稳定的制剂，并且该稳定制剂在高温下亦不变质而保持稳定。

5 根据本发明，该冷冻干燥物的另一个优点在于：除了冷冻期间避免抗体损伤之外，即使在 50℃ 下长期储存，该冷冻干燥物的抗体含量不减少，并且没有聚集物形成或不发生絮凝。因此，抗体的含量和纯度，是稳定的。用注射用水再生冷冻干燥物之后，低浊度值显示颗粒物的形成被避免。

下面以应用的实施例为基础，更详细的阐明本发明。

10 实施例 1-10 显示：根据本发明，关于抗体稳定性，用何种方式配方、制备和检测该冷冻干燥物。

在对照实验中，不用辅料物质，或者单用蔗糖，或者用甘露糖醇代替糖组份，或者单用氨基酸组份，或者只用糖或氨基酸组份而没有表面活性剂，这样的对照实验显示本发明组合的添加剂的选择是得到稳定制剂所必须的。单独用蔗糖、单独用氨基酸或者用这两种组份而没有表面活性剂则得到不稳定的制剂。

本发明制剂对冷冻不敏感，因此有可能完全不用被认为有毒的聚合物或蛋白质例如聚乙二醇、明胶和血清白蛋白。对于表面活性剂，只用相对少量生理上非常耐受的表面活性剂。

20 在下列应用的实施例中，所用的抗 HBV 抗体是从鼠细胞得到的重组人单克隆抗体 (MAB)。其分子量约 147kDa，并针对乙肝病毒的乙肝表面抗原 (HBsAg)。该单克隆抗体识别 HBsAg 中的  $\alpha$ -决定簇，后者在几乎所有的病毒变种中保持不变。例如该抗体能用于下列医学指征：从前没有令人满意治疗方法的慢性肝炎的治疗；对 HBsAg 阳性肝移植病人的被动免疫预防治疗。在中欧和北欧以及美国，高达 2% 的人群是乙肝病毒携带者，在南欧，高达 3%；远东地区约 10-15%。该慢性感染的结果是：发展成肝细胞癌的危险性增加 100 倍，40% 的病毒携带者是因为该感染而死亡。

在本发明范围内，优选使用的抗体是抗 L-selectin 抗体、抗 NGF 受体抗体或抗 PDGF 受体抗体。

30 实施例 1 显示：在 pH=5、pH=6.5 和 pH=8 时，经冷冻和解冻后，含有磷酸盐缓冲液和氯化钠的抗乙肝病毒单克隆抗体 (MAB HBV; INN 名: Tuvirumab) 水溶液的性质。它表明冷冻和解冻破坏单克隆抗体。



实施例 2 显示：在该冷冻干燥物中抗体浓度为 2mg/ml，即 2mg 时，蔗糖、麦芽糖或氨基糖（N-甲基葡萄糖胺或半乳糖胺）及精氨酸磷酸盐和吐温 20 稳定本发明制剂的可能性。

除了抗体浓度为 8mg/ml 外，实施例 2a 所应用的配方与实施例 2 相同。从实施例 2 和实施例 2a 可以看出所述辅料物质的组合不但避免抗体在冷冻期间的损害，而且能够增加其长期储存的稳定性。

实施例 3 显示本发明制剂中氨基酸和表面活性剂的必要性。应用单独组份蔗糖导致不稳定的冷冻干燥物。

实施例 4 描述氨基酸组份的变化。结果证明：精氨酸或鸟氨酸形式的碱性氨基酸变化以及用中性氨基酸如亮氨酸或者酸性氨基酸如天门冬氨酸代替上述碱性氨基酸得到能稳定储存的制剂。

在实施例 5 中，在不同 pH 值（pH5，pH6.5 和 pH8）下比较了含有蔗糖、精氨酸和吐温 20 以及磷酸盐缓冲液和氯化钠的制剂的冷冻干燥。得到的数据表明：在这些 pH 范围内，冷冻干燥不损害稳定性。

在实施例 6 中，若用典型的表面活性类化合物聚氧乙烯-聚氧丙烯聚合物（商品名 Pluronic®）代替所述表面活性剂吐温 20，也产生足够稳定的本发明制剂。

实施例 7 显示：含有甘露糖醇作为代替蔗糖、麦芽糖或氨基糖（见实施例 2）的组份时，其制剂是不稳定的。

实施例 8 表明：如果在配方中不用糖或表面活性剂，该制剂是不稳定的。

在实施例 9 中，尽管在应用糖（如蔗糖）和氨基酸组合而没有表面活性剂存在下，关于含量和聚集物的参数也得到良好结果，然而，与含糖、氨基酸和表面活性剂的本发明制剂相比，浊度大大增加。

实施例 10 表明：应用糖、氨基酸和表面活性剂的组合物，还可以稳定其它单克隆抗体。例如，抗 L-selectin 抗体，在冷冻干燥物中 7mg 的浓度是稳定的。进行冷冻干燥从 1ml 水溶液开始。

#### 确定稳定性的研究方法

在确定的避光储存条件下储存该冷冻干燥制剂，然后进行分析。应用下列测试方法进行分析。

OD280: 280nm 处的光密度。蛋白质含量的光度测定，由于侧链的发色团如色氨酸，酪氨酸和苯丙氨酸残基，而产生紫外吸收。95-105%。

SE-HPLC: 尺寸排阻高效色谱法确定聚集物。规格: 最大 2%。

浊度测量: 再生冷冻干燥物后, 在合适的浊度光度计中测量未稀释的抗体溶液。规格: 最大 6 个浊度单位。

实施例 1:

5        制备如上所述含有磷酸盐缓冲液和氯化钠的抗乙肝病毒单克隆抗体的水储备溶液, 对其进行检测。单克隆抗体的浓度约 15mg/ml。

10       表 1a 表明: 在-20℃时, 不同的 pH 值下, 单克隆抗体溶液在冷冻时不稳定性, 经过 4 周后, 蛋白质含量减少至 92.1%、94.2%和 94.0%。在 25℃储存时也观察到蛋白质含量的减少。在冰箱中 4-8℃的储存条件下, 该抗体能保持足够稳定 9 个月时间。

      表 1b-1d 表示: 在-20℃、4-8℃和 25℃时, pH 为 5、6.5 和 8 时制备的单克隆抗体溶液稳定性数据。这也表明只有在 4-8℃温度下的储存是可以接受的。

15       表 1a: 活性物质溶液中抗体含量的变化 (10mM 磷酸盐缓冲液, 30mM 氯化钠、注射用水)

20

pH 5				pH 6,5			pH 8		
时间	-20℃	4-8℃	25℃	-20℃	4-8℃	25℃	-20℃	4-8℃	25℃
开始		> 99			> 99			> 99	
4 周	92,1	> 99	> 99	94,2	> 99	> 99	94,0	> 99	> 99
13 周	78,9	> 99	97,2	81,2	> 99	98,1	77,8	> 99	96,1
6 个月	61,2	> 99	94,1	69,9	> 99	94,4	65,8	> 99	91,9
9 个月	47,8	> 99	88,7	55,6	> 99	90,2	51,0	> 99	84,3

25       注: 所有数据是百分比数据。通过在 280nm 处测量的吸收来确定蛋白质量 (OD280)

      表 1b): 抗体活性物质溶液的聚集物形成和浊度值, pH=5

时间	-20℃时 聚集物 浊度	-4-8℃时 聚集物 浊度	25℃时 聚集物 浊度
开始	n. n. 1.5	n. n. 1.5	n. n. 1.5
4 周	聚集物 絮凝	n. n. 1.5	0.7% 1.5
13 周	聚集物 絮凝	0.2% 1.8	1.9% 1.8
6 个月	聚集物 絮凝	0.3% 1.9	聚集物 9.9
9 个月	聚集物 絮凝	0.6% 2.1	聚集物 10.9

10 n. n. = 未检测出.

表 1c): 抗体活性物质溶液的聚集物形成和浊度值, pH=6.5

时间	-20℃时 聚集物 浊度	-4-8℃时 聚集物 浊度	25℃时 聚集物 浊度
开始	n. n. 1.2	n. n. 1.2	n. n. 1.2
4 周	聚集物 絮凝	n. n. 1.3	0.5% 1.4
13 周	聚集物 絮凝	0.2% 1.4	1.8% 1.7
6 个月	聚集物 絮凝	0.3% 1.9	4.9% 絮凝
9 个月	聚集物 絮凝	0.6% 2.1	9.3% 絮凝

表 1d): 抗体活性物质溶液的聚集物形成和浊度值, pH=8 时

时间	-20℃时 聚集物 浊度	-4-8℃时 聚集物 浊度	25℃时 聚集物 浊度
开始	n. n. 1.4	n. n. 1.4	n. n. 1.4
4 周	2.0% 絮凝	0.3% 1.5	0.74% 1.7
13 周	2.8% 絮凝	0.5% 1.8	1.95% 2.1
6 个月	3.7% 絮凝	0.6% 1.9	3.0% 絮凝
9 个月	5.4% 絮凝	0.8% 2.1	4.3% 絮凝



聚集物用 SE-HPLC 以 % 表示, 浊度用浊度光度计以浊度单位表示。

### 实施例 2:

如实施例 1 中的抗乙肝病毒单克隆抗体溶液, 将其加入到含有磷酸精氨酸盐缓冲液和吐温 20 作为表面活性剂的下列糖或氨基糖的水溶液中: 蔗糖 (配方 1)、麦芽糖 (配方 2) 和 N-甲基葡萄糖胺 (配方 3)。配方如实施例 2a 所示。MAB 的最终浓度是 2mg/ml。用磷酸调整 pH 值到 6.5 之后, 过滤消毒该溶液 (0.22 $\mu$ m 膜过滤器), 装入到消毒后并去热的玻璃注射瓶 (水解类 I) (填充体积 1ml), 然后冷冻干燥。注射瓶冷冻干燥之后, 用氮气充气, 在冷冻干燥室中用塞子机械密封, 然后装上凸缘。

装上凸缘的注射瓶在不同温度下避光保存 4-13 周。然后, 用所述检测方法检测该冷冻干燥物的稳定性。

表 2a 在 25 $^{\circ}$ C 下储存

15

	25 $^{\circ}$ C 下储存 4 周			25 $^{\circ}$ C 下储存 13 周		
	I	II	III	I	II	III
配方 1 蔗糖	100	n. n.	1.7	100	n. n.	1.6
配方 2 麦芽糖	100	n. n.	1.6	100	n. n.	1.8
20 配方 3 N-甲基葡萄糖胺	100	n. n.	1.8	100	n. n.	1.5

表 2b 在 50 $^{\circ}$ C 下储存

25

	50 $^{\circ}$ C 下储存 4 周			50 $^{\circ}$ C 下储存 13 周		
	I	II	III	I	II	III
配方 1 蔗糖	>99	n. n.	2.0	>99	n. n.	2.0
配方 2 麦芽糖	>99	n. n.	1.9	>99	n. n.	2.1
配方 3 N-甲基葡萄糖胺	>99	n. n.	1.7	>99	n. n.	2.0

注: I 用 OD280 测量, 以 % 表示的蛋白质含量

30

II 用 SE-HPLC 测的以 % 表示的聚集物

III 以浊度单位表示的再生溶液的浊度 (无量纲数据)

n. n. 未检测出 (所有下列表中采用同一方式表示)

### 实施例 2a

在实施例 2a 中, 用 8mg/ml 抗体制备实施例 2 中的配方 1(=配方 1a).  
结果证明: 高达 8mg/ml 浓度的抗体在该配方中足够稳定

5

配方 1 和 1a 的组成:

	配方 1	配方 1a
MAB HBV	2.0mg	8.0mg
10 磷酸盐缓冲液	15mM	15mM
氯化钠	30mM	30mM
蔗糖	68.0mg	58.0mg
精氨酸	10.0mg	10.0mg
磷酸	调至 pH6.5	调至 pH6.5
15 吐温 20	0.1mg	0.1mg
注射用水	加至 1ml	加至 1.0ml

表 3a: 25℃ 下, 配方 1 和配方 1a 的稳定性数据

20	25℃ 下储存 4 周			25℃ 下储存 13 周		
	I	II	III	I	II	III
配方 1: 2mg/ml	100	n. n.	1.7	100	n. n.	1.6
配方 1a: 8mg/ml	>99	n. n.	4.8	>99	n. n.	4.7

25

表 3a: 50℃ 下, 配方 1 和配方 1a 稳定性数据

30	25℃ 下储存 4 周			25℃ 下储存 13 周		
	I	II	III	I	II	III
配方 1: 2mg/ml	>99	n. n.	2.0	>99	n. n.	2.0
配方 1a: 8mg/ml	>99	n. n.	4.7	>99	n. n.	5.5

注: I 用 OD280 测量, 以 % 表示的蛋白质含量

II 用 SE-HPLC 测的以 % 表示的聚集物

III 以浊度单位表示的再生溶液的浊度 (无量纲数据)

### 实施例 3

- 5 配方 1 和 4 的对比。配方 4 只含有蔗糖作为组份, 不含精氨酸磷酸盐和吐温 20。配方 4 不稳定。

		配方 1	配方 4
10	MAB HBV	2.0mg	2.0mg
	磷酸盐缓冲液	15mM	15mM
	氯化钠	30mM	30mM
	蔗糖	68.0mg	68.0mg
	精氨酸	10.0mg	--
15	磷酸或氢氧化钠	调至 pH6.5	调至 pH6.5
	吐温 20	0.1mg	--
	注射用水	加至 1ml	加至 1.0ml

表 4a: 25℃ 温度下储存

20		25℃ 下储存 4 周			25℃ 下储存 13 周		
		I	II	III	I	II	III
25	配方 1: 蔗糖以及精氨酸磷酸盐和吐温 20	100	n. n.	1.7	>99	n. n.	1.6
	配方 4: 蔗糖没有精氨酸磷酸盐和吐温 20	98.3	1.6	6.1	96.0	4.3	9.5



表 4b: 50℃ 温度下储存

	50℃ 下储存 4 周			50℃ 下储存 13 周		
	I	II	III	I	II	III
5 配方 1: 蔗糖以及精氨酸磷酸盐和吐温 20	100	n. n.	2.0	>99	n. n.	2.0
配方 4: 蔗糖没有精氨酸磷酸盐和吐温 20	96.0	4.2	8.5	89.8	10.1	10.9

- 10 注: I 用 OD280 测量, 以 % 表示的蛋白质含量  
 II 用 SE-HPLC 测的以 % 表示的聚集物  
 III 以浊度单位表示的再生溶液的浊度 (无量纲数据)

实施例 4: 制剂中氨基酸组份的变化. 含碱性、酸性和中性氨基酸

- 15 的制剂是稳定的

配方组成:

- 20 MAB HBV 2.0mg  
 磷酸盐缓冲液 15mM  
 氯化钠 30mM  
 蔗糖 35-70mg  
 氨基酸 可变动  
 磷酸或氢氧化钠 调至 pH6.5  
 吐温 20 0.1mg  
 注射用水 加至 1.0ml

- 25 表 5

	氨基酸
配方 1	精氨酸 (碱性)
配方 5	鸟氨酸 (碱性)
30 配方 6	亮氨酸 (中性)
配方 7	天门冬氨酸 (酸性)

用磷酸或者氢氧化物溶液调整 pH 值。

表 6a-d

配方 1、5、6、7 储存 4 周和 13 周后的检查结果

5

a) 表 6a

配方 1 (精氨酸):

	4 周储存期		13 周储存期	
	25℃	50℃	25℃	50℃
10 蛋白质含量 % (OD280)	100	>99	100	>99
聚集物 % (SE-HPLC)	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
浊度	1.7	2.0	1.6	2.0

15

b) 表 6b 配方 5 (鸟氨酸):

	4 周储存期		13 周储存期	
	25℃	50℃	25℃	50℃
20 蛋白质含量 % (OD280)	>99	>98	>98	>98
聚集物 % (SE-HPLC)	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
浊度	1.9	1.9	2.0	2.1

c) 表 6c 配方 6 (亮氨酸):

25

	4 周储存期		13 周储存期	
	25℃	50℃	25℃	50℃
30 蛋白质含量 % (OD280)	>98	>98	>98	>98
聚集物 % (SE-HPLC)	n. n.	n. n.	0.1	0.1
浊度	2.2	2.4	2.8	2.7

d) 表 6d 配方 7 (天冬氨酸):

		4 周储存期		13 周储存期	
		25℃	50℃	25℃	50℃
5	蛋白质含量 % (OD280)	>98	>98	>98	>98
	聚集体 % (SE-HPLC)	n. n.	n. n.	0.1	0.1
	浊度	2.7	2.7	3.4	4.0

10 实施例 5

实施例 5 含有不同 pH 值下的配方 1, 如实施例 2 所述制备冷冻干燥物, 在冷冻干燥之前用 85% 磷酸调整辅料物质溶液和产品溶液的 pH 值。

配方:

	MAB HBV	2.0mg
15	磷酸盐缓冲液	15mM
	氯化钠	30mM
	蔗糖	68mg
	精氨酸	10mg
	磷酸	调至 pH5; 6.5; 8
20	吐温 20	0.1mg
	注射用水	加至 1.0ml

制备表 7 所示 pH 值下的冷冻干燥物。

25 注射瓶装上凸缘后, 在确定温度条件下避光储存。经储存 4 周和 13 周后, 分析样品 (蛋白质含量以 % 表示: OD280, 聚合物以 % 表示: SE-HPLC, 浊度)。该配方在所有 pH 值下是稳定的。



表 7:

	pH
配方 8	5
5 配方 9 (同 1)	6.5
配方 10	8

表 8a: 25℃ 下储存

10

	25℃ 下储存 4 周			25℃ 下储存 13 周		
	I	II	III	I	II	III
配方 8	100	n. n.	1.9	>99	n. n.	2.3
配方 9 (= 1)	100	n. n.	1.7	100	n. n.	1.6
15 配方 10	>99	n. n.	2.3	>99	n. n.	2.6

表 8b: 50℃ 下储存

20

	50℃ 下储存 4 周			50℃ 下储存 13 周		
	I	II	III	I	II	III
配方 8	>99	n. n.	2.2	>99	n. n.	2.3
配方 9 (= 1)	>99	n. n.	2.0	>99	n. n.	2.0
配方 10	>98	n. n.	2.5	>98	n. n.	2.6

25

注: I 用 OD280 测量, 以 % 表示的蛋白质含量

II 用 SE-HPLC 测的以 % 表示的聚集体

III 以浊度单位表示的再生溶液的浊度 (无量纲数据)

### 实施例 6

30

用 Pluronic F68 代替吐温 20 作为表面活性剂, 如上所述, 制备下面的配方.

通过与其它实施例类似的方式，进行储存和稳定性的检测。

配方 11

	MAB HBV	2.0mg
5	磷酸盐缓冲液	15mM
	氯化钠	30mM
	蔗糖	48.0mg
	精氨酸	10.0mg
	磷酸	调至 pH6.5
10	Pluronic F68	0.1mg
	注射用水	加至 1.0ml

选择配方 1 作为对照，除了用吐温 20 代替 Pluric F 68 外，配方 1 与配方 11 完全相同。这两种制剂都是稳定的。

表 9: 含有 Pluronic 作为表面活性剂和含有吐温 20 作为表面活性剂的配方稳定性数据。

20		配方 11				配方 1			
		4 周储存期		13 周储存期		4 周储存期		13 周储存期	
		25℃	50℃	25℃	50℃	25℃	50℃	25℃	50℃
	蛋白质含量% (OD 280)	>98	>98	>98	>98	100	>99	100	>99
25	聚集物% (SE-HPLC)	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
	浊度	1.9	1.9	2.5	2.2	1.7	2.0	1.6	2.0

实施例 7:

该实施例所描述的配方 12 基本上相当于配方 1，但是用甘露糖醇代替蔗糖作为组份。可以看出该甘露糖醇配方是不稳定的。

配方 12:

	MAB HBV	2.0mg
	磷酸盐缓冲液	15mM
5	氯化钠	30mM
	甘露糖醇	25.0mg
	精氨酸	10.0mg
	磷酸	调至 pH6.5
	吐温 20	0.1mg
10	注射用水	加至 1.0ml

表 10: 含有甘露糖醇配方 (配方 12) 和蔗糖配方 (配方 1) 的稳定性数据.

15		配方 12				配方 1			
		4 周储存期		13 周储存期		4 周储存期		13 周储存期	
		25℃	50℃	25℃	50℃	25℃	50℃	25℃	50℃
20	蛋白质含量 %	96.2	91.8	94.0	84.5	100	>99	100	>99
	(OD 280)								
	聚集物 %								
	(SE-HPLC)	3.6	8.4	5.8	15.9	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
	浊度	3.2	6.9	4.9	13.2	1.7	2.0	1.6	2.0

25 实施例 8

对于糖、氨基酸和表面活性剂组合的必要性, 通过含有所有所列组份的配方 1 和由抗体、磷酸盐缓冲液、氯化钠和精氨酸磷酸盐组成的配方 13 进行比较证明. 当不含糖和表面活性剂时, 聚集物形成可能性增加并且浊度值变大.



配方 13:

	MAB HBV	2.0mg
	磷酸盐缓冲液	15mM
5	氯化钠	30mM
	精氨酸	35.0mg
	磷酸	调至 pH6.5
	注射用水	加至 1.0ml

10      表 11: 配方 13 (没有蔗糖和吐温 20, 只有精氨酸磷酸盐作为组份)  
和配方 1 的稳定性数据

15		配方 13				配方 1			
		4 周储存期		13 周储存期		4 周储存期		13 周储存期	
		25℃	50℃	25℃	50℃	25℃	50℃	25℃	50℃
	蛋白质含量% (OD 280)	97.6	94.9	95.8	89.0	100	>99	100	>99
20	聚集物% (SE-HPLC)	2.6	4.5	4.0	10.7	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
	浊度	2.9	4.5	3.8	12.3	1.7	2.0	1.6	2.0

实施例 9:

25      当不含表面活性剂 (吐温 20) 而只有蔗糖和精氨酸时, 虽然得到了稳定的制剂, 但浊度值增加 (配方 14) .

配方 14:

	MAB HBV	2.0mg
	磷酸盐缓冲液	15mM
	氯化钠	30mM
5	蔗糖	68.0mg
	精氨酸	10.0mg
	磷酸	调至 pH6.5
	注射用水	加至 1.0ml

10 表 12: 配方 14 和配方 1 的稳定性数据

		配方 14				配方 1			
		4 周储存期		13 周储存期		4 周储存期		13 周储存期	
		25℃	50℃	25℃	50℃	25℃	50℃	25℃	50℃
15	蛋白质 含量 % (OD 280)	>99	>98	>98	>98	100	>99	100	>99
	聚集体 % (SE-HPLC)	0.2	0.3	0.5	1.3	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
20	浊度	3.4	4.8	8.8	13.3	1.7	2.0	1.6	2.0

实施例 10

25 下表显示了配方 15 的组份。所用抗体为抗-L-selectin 抗体。表 13a 中关于检测稳定性的数据表明：所用的配方具有足够的稳定性。

配方 15 的组成:

配方 15	
抗 L-selectin 抗体	7.0mg
磷酸盐缓冲液	15mM
氯化钠	30mM
蔗糖	68.0mg
精氨酸	10.0mg
磷酸	调至 pH6.5
吐温 20	0.1mg
注射用水	加至 1.0ml

表 13a: 配方 15 在 25℃ 下的稳定性数据

15	25℃ 下储存 4 星期			25℃ 下储存 13 星期		
	I	II	III	I	II	III
配方 15: 7mg/1ml	>99	n. n.	2.5	>99	n. n.	2.9

表 13b: 配方 15 在 50℃ 下的稳定性数据

20	50℃ 下储存 4 星期			50℃ 下储存 13 星期		
	I	II	III	I	II	III
配方 15: 7mg/1ml	99	n. n.	4.1	>99	n. n.	5.2

- 25 注: I 用 OD280 测量, 以 % 表示的蛋白质含量  
 II 用 SE-HPLC 测的以 % 表示的聚集物  
 III 以浊度单位表示的再生溶液的浊度 (无量纲数据)

实施例 11

- 30 抗 L-NGER (抗 L-神经生长因子受体) 抗体的稳定性

配方 16:

制备下列配方 (类似于配方 1) 的冷冻干燥物

配方 16	
抗 L-NGFR 抗体	0.25mg
磷酸盐缓冲液	15mM
蔗糖	75mg
精氨酸	10mg
磷酸	调至 pH6.5
吐温 20	0.1mg
注射用水	加至 1.0ml

- 10 通过与制备 MAB-HBV 和抗 L-selectin 冷冻干燥物类似的方法，制备得到抗 L-NGFR 的冷冻干燥物。

- 15 pH = 5-8 的含添加剂糖、氨基酸和表面活性剂的水溶液，与抗 L-NGFR 的磷酸盐缓冲液混合，使加入磷酸盐的量达到前面所述的浓度。然后过滤消毒，通过此方式制备的溶液进行冷冻干燥。经冷冻干燥后，得到理想的冷冻干燥饼。抗 L-NGFR 抗体保持稳定。用注射用水再生该冷冻干燥物后，得到澄清溶液。